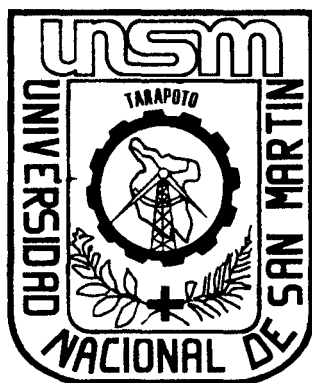


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICO - PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS *IN VITRO* DE YUCA
(*Manihot esculenta* C.) EN INVERNADERO EN LA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL EL PORVENIR - JUAN
GUERRA**

**Para optar el Título Profesional de:
INGENIERO AGRÓNOMO**

**Presentado por el Bachiller:
CARLOS RAFAEL RAMIREZ ISUIZA**

TARAPOTO - PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

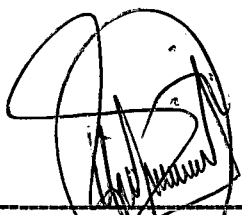
ÁREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS

TESIS

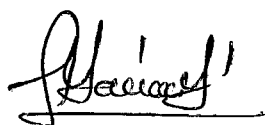
**ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS *IN VITRO* DE YUCA (*Manihot
esculenta* C.), EN INVERNADERO EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL
EL PORVENIR - JUAN GUERRA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

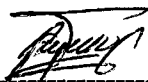
INGENIERO AGRÓNOMO



Ing. M.Sc. Dr. Orlando Ríos Ramírez
PRESIDENTE



Ing. M.Sc. Patricia García Gonzáles
MIEMBRO



Ing. M.Sc. Guillermo Vásquez Ramírez
MIEMBRO



Ing. Segundo Darío Maldonado Vásquez
ASESOR

TARAPOTO – PERÚ

2013

DEDICATORIA

A mis queridos padres Reninger y Norma por el apoyo incondicional que tienen para conmigo, que hicieron lo posible para que pueda realizar mis estudios y al mismo tiempo por el apoyo moral y son mi ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos Roger y Denith que de igual forma me brindan el apoyo moral que me ayudaron a seguir mis estudios y al mismo tiempo por los consejos que me ayuda a formarme como persona profesional.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Taxonomía	4
3.2. Morfología y Anatomía	4
3.3. Importancia del cultivo	8
3.4. Del cultivo <i>in vitro</i>	9
3.5. Medios de cultivo	10
3.6. Ventajas y desventajas de la propagación <i>in vitro</i>	10
3.7. Fases de la Micropropagación	11
3.8. Condiciones Ambientales del cultivo	12
3.9. Sistema de Propagación <i>in vitro</i> de Yuca	13
3.10. Aclimatación de plantas <i>in vitro</i>	13
3.11. Anatomía de las plantas cultivadas <i>in vitro</i> y su influencia sobre la aclimatación	16
3.12. Factores morfológicos que influyen en la aclimatación	17
3.13. Hormonas y reguladores de crecimiento	19
3.14. Sustrato	23

IV. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1. Materiales	30
4.2. Condiciones climatológicos del ambiente de aclimatación en invernadero	31
4.3. Metodología del experimento	32
4.4. Instalación del experimento	33
4.5. Variables evaluadas	35
V. RESULTADOS	37
5.1 Protocolo de aclimatación	37
5.1. Porcentaje de supervivencia.	38
5.2. Altura de planta (cm).	40
5.3. Número de raíces.	42
5.4. Número de hojas.	44
VI. DISCUSIONES.	46
VII. CONCLUSIONES.	54
VIII. RECOMENDACIONES.	55
IX. BIBLIOGRAFÍA.	56
RESUMEN.	65
SUMARY.	66

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Registro de la condiciones Microclimaticas de invernadero de aclimatación de plántulas de <i>Manihot esculenta</i> C.	31
2. Tratamientos en estudio.	33
3. Análisis de varianza de porcentaje de supervivencia de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. aclimatadas en vivero.	38
4. Análisis de varianza para altura de planta <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. (cm), aclimatadas en vivero	40
5. Análisis de varianza del número de raíces de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. aclimatadas en vivero	42
6. Análisis de varianza del número de hojas de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C, aclimatadas en vivero.	44

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
1. Prueba de rangos múltiples de Duncan al 0.05, para el porcentaje de supervivencia de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C, aclimatadas vivero.	39
2. Prueba de rangos múltiples de Duncan al 0.05, para la altura de plántulas (cm) <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. aclimatadas en vivero.	41
3. Prueba de rangos múltiples de Duncan al 0.05, para el número de raíces de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. aclimatadas vivero.	43
4. Prueba de rangos múltiples de Duncan al 0.05, para número de hojas de plántulas <i>in vitro</i> de <i>Manihot esculenta</i> C. aclimatadas en vivero.	45

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Manihot esculenta* C., es una especie de gran importancia socio-económica para los agricultores y consumidores de pocos recursos, de países tropicales, siendo producto básico en la dieta alimenticia y ocupa el cuarto lugar en importancia como fuente de energía, después del arroz, el maíz y la caña de azúcar (Cock, 1984).

En relación con la yuca se utiliza la micropropagación *in vitro* para producir plántulas. La tecnología de tejidos de cultivo permite producir, en forma masiva, plántulas libres de plagas y patógenos, tales como mosaico de la yuca, bacteriosis, entre otros; aumentando así su productividad y, en ciertos casos, su longevidad.

La aclimatación es la etapa fundamental en un sistema de micropropagación, porque dependiendo de ella, la eficiencia del proceso y la calidad final de las plantas producidas *in vitro* (Agramonte et al, 1998).

Estas plantas en comparación con las cultivadas tradicionalmente presentan un comportamiento diferente en condiciones de invernáculo o de campo. Es decir, sufren cambios morfológicos y fisiológicos que ocasionan una pérdida importante de plantas en el momento del trasplante.

Por esta razón, es necesaria la aplicación de técnicas de adaptación al pasar de las condiciones *in vitro* a *ex vitro*. Por tal razón en el Instituto Nacional de Innovación

Agraria de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir", en el Laboratorio de Biotecnología viene realizando investigaciones en el cultivo in vitro de *Manihot esculenta* C., sin embargo a la fecha no se dispone de una tecnología viable durante la etapa de aclimatación.

Es por ello que en la presente investigación se busca desarrollar un protocolo de aclimatación de vitroplantas *Manihot esculenta* C., que garanticen su supervivencia en campo definitivo.

II. OBJETIVOS

- 2.1.** Determinar un protocolo de aclimatación de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.), micropropagadas clonalmente en condiciones de Laboratorio.
- 2.2.** Determinar el efecto del inductor de crecimiento ácido indol butírico (AIB) en el desarrollo óptimo de aclimatación en vivero de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.) propagadas *in vitro*.
- 2.3.** Determinar los niveles óptimos de conductividad eléctrica de una solución de fertilizante foliar balanceada (20-20-20)

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Taxonomía

Ceballos y de la Cruz (2 009), clasifica a la “Yuca” de la siguiente manera:

División	:	Phanerogamas
Subdivisión	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledoneas
Orden	:	Geraniales
Suborden	:	Tricoccae
Familia	:	Euphorbiaceae
Tribu	:	Manihoteae
Género	:	<i>Manihot</i>

3.2 Morfología Y Anatomía

3.2.1 La Planta

Ceballos y de la Cruz (2 009), mencionan que toda descripción botánica se basa en el análisis de caracteres morfológicos que, cuando son constantes, permiten tipificar a la especie.

Sin embargo, la expresión de muchas características es variable y profundamente influida por el ambiente. El efecto de interacción variedad por ambiente es muy notable en el caso de la yuca, y resulta, por ejemplo, en que la arquitectura típica de una determinada variedad, en un ambiente

específico, cambie drásticamente cuando la misma variedad es plantada en otra localidad. Esta interacción variedad por ambiente dificulta la descripción morfológica de la especie, así como la descripción varietal.

La yuca es un arbusto perenne. Es monoica, de ramificación simpodial y con variaciones en la altura de la planta que oscilan entre 1 y 5 m, aunque la altura máxima generalmente no excede los 3 m.

3.2.2 El Tallo

Ceballos y de la Cruz (2 009), menciona que los tallos son particularmente importantes en la yuca, pues son el medio que se utiliza para la multiplicación vegetativa o asexual de la especie.

Porciones lignificadas del tallo, comúnmente llamadas estacas o cangres, sirven como “semilla” para la producción comercial del cultivo.

El tallo maduro es cilíndrico y su diámetro varía de 2 a 6 cm. Se pueden observar tres colores básicos de tallo maduro: gris-plateado, morado y amarillo verdoso. Tanto el diámetro como el color de los tallos varía significativamente con la edad de la planta y, obviamente, con la variedad.

Los tallos están formados por la alternación de nudos y entrenudos. En las partes más viejas se observan unas protuberancias que marcan en los nudos la posición que ocuparon inicialmente las hojas.

El nudo es el punto en el que una hoja se une al tallo, y el entrenudo es la porción del tallo comprendida entre dos nudos sucesivos.

3.2.3 Las Hojas

Ceballos y de la Cruz (2 009), menciona que las hojas son los órganos en los cuales ocurre, principalmente, la fotosíntesis que permite la transformación de la energía radiante en energía química.

Las hojas son caducas, es decir, se avejentan, mueren y se desprenden de la planta a medida que ésta se desarrolla. El número total de hojas producidas por la planta, su longevidad y capacidad fotosintética son características varietales, profundamente influidas por las condiciones ambientales.

Las hojas de la yuca son alternas, simples y tienen vida corta (1-2 meses). Son de forma palmipartidas, con 5-7 lóbulos, los que pueden tener forma aovada o linear. El tamaño de la hoja se mide por el largo del lóbulo medio, y por lo general es de 14 – 17 cm.

El color de la cara superior de las hojas puede ser: verde, verde marrón. Y verde claro.

Los pecíolos son largos y delgados de 20 – 40 cm. y sus colores son: rojo verdoso, verde rojizo, y verde

Las hojas de la yuca son bifaciales y poseen una epidermis superior brillante con un tejido lagunoso denso y una epidermis inferior en que las células sobresalen, dando a esta cara un aspecto aterciopelado opaco.

3.2.4 El Sistema Radical

Ceballos y de la Cruz (2 009), mencionan que la principal característica de las raíces de yuca es su capacidad de almacenamiento de almidones, razón por la cual es el órgano de la planta que hasta el momento ha tenido un mayor valor económico. Sin embargo, no todas las raíces producidas eventualmente se convierten en órganos de almacenamiento.

Cuando la planta proviene de semilla sexual, se desarrolla una raíz primaria pivotante y varias de segundo orden. Aparentemente, la raíz primaria siempre evoluciona para convertirse en una raíz tuberosa y es la primera en hacerlo.

Si la planta proviene de estacas, las raíces son adventicias y se forman en la base inferior cicatrizada de la estaca, que se convierte en una callosidad y también a partir de las yemas de la estaca que están bajo tierra. Estas raíces al desarrollarse, inicialmente, forman un sistema fibroso, pero después algunas de ellas (generalmente menos de 10) inician su engrosamiento y se convierten en raíces tuberosas.

El número de éstas se determina, en la mayoría de los casos, en las primeras etapas de crecimiento de la planta.

3.3 Importancia del Cultivo

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) ocupa un lugar importante como fuente de energía producida en el trópico (latitudes <30°), que van desde el nivel del mar hasta los 1800 msnm (**Dufour, 1996; Ceballos, 2002**).

Hoy en día, el cultivo se ha extendido a cerca de 90 países tropicales y subtropicales y es un componente básico en la dieta de más de 1000 millones de personas (**FAO, 2000; FAO/FIDA, 2000**).

De acuerdo a sus usos, la yuca puede entrar en diversos mercados. Se comercializa como raíces frescas y hojas, y estos productos normalmente reciben algún manejo post-cosecha o tratamiento especial. Caracterizada por una gran diversidad de usos, tanto sus raíces como sus hojas pueden ser consumidas por humanos y animales de maneras muy variadas y sus productos pueden ser utilizados por la industria, principalmente a partir de su almidón (**Ceballos, 2002**).

En algunos países las hojas se consumen como verdura fresca, siendo más nutritivo que las raíces dado su alto contenido proteico, de minerales y vitaminas. Otros mercados, como el de pegamentos y alcohol representan nuevas oportunidades para el uso de yuca en muchos países (**Henry et al., 1998**).

Por otro lado, el mercado del almidón de yuca también tiene muchas posibilidades de crecimiento para uso industrial y humano, por su viscosidad y

resistencia al congelamiento, o en la elaboración de alfombras, látex de caucho, fabricación de salsas, compotas, talcos, papel, cartón, industria cosmética, farmacéuticos y en la industria minera, entre otros. **(FAO, 2000).**

3.4 Del Cultivo In Vitro

3.4.1 Cultivo In Vitro de Tejidos

Roca y Mroginski (1 991), define el Cultivo de Tejidos como una técnica que consiste en aislar una porción de planta (explante) y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido.

Al igual que otros métodos de multiplicación vegetativa o asexual, los individuos descendientes de una planta madre cultivada in vitro, son clones, es decir copias genéticamente iguales entre ellas e idénticas a la madre.

En plantas propagadas por semilla la descendencia no es clonal, pues cada semilla tiene su propia base genética que resulta de genes de ambos progenitores **(Roca y Mroginski, 1 991).**

Generalmente se emplean yemas y meristemas para regenerar nuevas plantas o estimular brotes múltiples, siendo muy importantes mantener esta producción a perpetuidad **(Sétyer, 1988)**

3.5 Medios de Cultivo

Los medios de cultivo empleados tienen diversas composiciones y se emplean como líquidos o geles (**Roca y Mroginski, 1 991**).

Los constituyentes básicos incluyen todos los elementos minerales esenciales para el desarrollo de la planta, macro y micronutrientes; un azúcar, vitaminas como la tiamina, glicina, entre otros, sustancias reguladoras de crecimiento; y otros compuestos.

Usando las sustancias químicas necesarias y las combinaciones apropiadas de nutrientes, así como su forma química adecuada, ha sido posible establecer cultivos para casi todas las partes de una planta en diversas especies vegetales (**Hurtado y Merino 1988**).

3.6 Ventajas y Desventajas de la Propagación In Vitro

Según **Girgebv (1 994)**, las ventajas de las técnicas de propagación in vitro de especies vegetales, pueden ser resumidas como sigue.

A) Ventajas

- Acelera el proceso de propagación y posibilita el rescate de especies en peligro de extinción.
- Permite la eliminación de patógenos, hongos, bacterias, virus, etc.
- Las plantas son de crecimiento y desarrollo vigoroso resultando más resistentes a enfermedades.
- Se puede realizar la propagación de plantas en corto tiempo y espacio

hace posible establecer bancos de germoplasma in vitro.

B) Desventajas

- Los costos de instalación de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales son bastante elevados.
- Se debe contar con personal calificado y disponibilidad de reactivos.
- La aclimatación de las plántulas producidas in vitro ocasiona porcentajes altos de pérdidas de plántulas en esta fase.

3.7 Fases de la Micropropagación

Murashige (1974; 1977), encontró que era útil destacar la secuencia de eventos asociados con la multiplicación de plantas mediante las técnicas de cultivo aséptico, de la siguiente manera:

- **Etapas I.** Iniciación o establecimiento (se establece el cultivo inicial o primario)
- **Etapas II.** Multiplicación de brotes o multiplicación de plantas.
- **Etapas III.** Corresponde al enraizamiento o etapa de pretransplante; tiene como objetivo producir una planta autotrófica que pueda sobrevivir en las condiciones del trasplante al suelo (**Krikorian, 1991**).
- Además de las anteriores, pueden considerarse otras dos etapas como parte integral del procedimiento:
- **Etapas IV.** Transferencia final a la etapa de medio ambiente.
- **Etapas 0.** Etapa inicial, que comprende la selección de la planta madre y la

selección de una modalidad de pretratamiento para volver funcional la estrategia que se adopte **(Krikorian, 1991)**.

3.8 Condiciones Ambientales del Cultivo

Los cultivos de tejidos vegetales deben mantenerse en condiciones ambientales semejantes a las naturales más favorables. La luz, la temperatura y la humedad relativa son los principales factores del ambiente que inciden sobre los cultivos **(Vidalie, 1986)**.

El comportamiento de muchos cultivos depende de la calidad, intensidad y fotoperíodo de la luz que reciben, dado que varias enzimas involucradas en el desarrollo y en el metabolismo secundario son influenciadas por la luz. Si bien la calidad de la luz puede determinar diferentes respuestas morfogénicas, en general se utiliza luz blanca, pobre en longitudes de onda larga. El fotoperíodo habitualmente utilizado es de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, aunque algunos cultivos requieren oscuridad **(Marín, 1993)**.

La temperatura de las cámaras de cultivo se regula en general entre 22 y 28 °C, permitiendo así el desarrollo tanto de especies de climas templados como de plantas tropicales. Es de destacar que durante el período iluminado, la temperatura en el interior de los frascos de cultivo es 1 ó 2 C superior a la de la cámara, debido al efecto invernadero; se crea así un termoperíodo suave **(Marín, 1993)**.

En cuanto a la humedad relativa, ésta se mantiene en alrededor del 70 % en las condiciones en las que se realizan habitualmente los cultivos, aunque varía con la temperatura de la cámara y el tipo y tapa de los recipientes. El porcentaje de humedad relativa no es reportado en la mayoría de los trabajos sobre cultivo in vitro de vegetales (George, 1987).

3.9 Sistema De Propagación In Vitro de Yuca

Actualmente se conocen dos sistemas de propagación in vitro de la yuca:

- ✓ A partir de meristemas preexistentes, por ejemplo, en nudos y ápices (Roca, 1991; Konan et al, 1994) o mediante el cultivo de “roseta” (Roca, 1991);
- ✓ Propiciando la formación de nuevos embriones somáticos, por ejemplo, inducidos a partir de hojas inmaduras o de meristemas apicales (Szabados et al., 1987).

El primer sistema de propagación (cultivo de ápices y nudos) es el más común.

3.10 Aclimatación de Plantas In Vitro

Brainerd y Fuchigami (1981), mencionan que la aclimatación de plantas in vitro a las condiciones naturales, es un paso crítico para muchas especies y requiere tiempo e instalaciones caras que restringen la aplicación comercial de los procesos de micro propagación.

Estas plantas muestran un rápido marchitamiento cuando se transfieren a condiciones de invernadero, por lo tanto debe mantenerse una humedad relativa

alta en el nuevo ambiente, para no dañar los mecanismos que mantienen el volumen de agua en la planta (Fila et al, 1 998).

Los frascos, tubos de ensayo y matraces necesitan ser cerrados para impedir su deshidratación e infección, pero por otro lado, tiene que ser posible el intercambio gaseoso con el exterior, para evitar una falta de oxígeno o el exceso de gases producidos como el CO₂ y el etileno (Pierik, 1 990).

Zobayed y Armstrong (2 001), explican que la principal característica del ambiente gaseoso in vitro, en un sistema convencional de cultivo de tejido es la alta humedad relativa, gran fluctuación diurna de la concentración de CO₂ y la acumulación de etileno y de otras sustancias tóxicas, esto debido al restringido intercambio aéreo entre el tubo de cultivo y el ambiente.

Tradicionalmente el cultivo de tejidos ha involucrado recipientes cerrados con plantas creciendo heterotróficamente, en un medio con agar que contiene una fuente de carbono. Para mejorar la aclimatación de las plantas in vitro debe proporcionárseles un ambiente que se parezca al in vivo, especialmente durante la etapa III. Para estimular fotoautotrofia, se reduce la concentración de hidratos de carbono en el medio, se incrementa la intensidad de luz y se eleva la concentración de CO₂.

Además, es importante normalizar el ambiente gaseoso en los vasos de cultivo cerrados, ya que éstos difieren muy notablemente del ambiente, y puede

provocar cambios significativos en el crecimiento y en la fisiología de la planta. Los valores de CO₂ son del orden de 0 – 12%, es decir menores a 10 ppm y los de la acumulación de etileno de 3 µl/l, además de una humedad relativa cercana al 100%. **(Murphy et al, 1 998).**

Las concentraciones de etileno en los tubos de cultivo pueden afectar el crecimiento in vitro de las plantas. **(Santamaría et al, 2 000).**

Las plantas cultivadas in vitro, tienen generalmente la cutícula escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa (90% - 100%). Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en condiciones in vivo es más baja **(Pierik, 1990).**

Por otra parte, **Pierik (1 990)** señala que las hojas de una planta producida in vitro, son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas, además tienen las células en empalizada que son las que deben utilizar la luz, más pequeñas y en menor cantidad. Indica además que los estomas pueden no ser suficientemente operativos, y permanecer abiertos al trasplantarse al suelo, originando un importante estrés hídrico en las primeras horas de aclimatación.

Thomas (1 998) demuestra que la aclimatación de las plantas in vitro es a menudo difícil porque ellas poseen tallos y hojas suculentas, debido a la alta humedad dentro del vaso de cultivo, y el agua libre en el medio.

Fila et al. (1 998) Señalan que la aclimatación puede ser mejorada modificando el microambiente durante el desarrollo in vitro, por ejemplo reduciendo la humedad relativa que causa un endurecimiento de la planta, mejorando los resultados durante el trasplante. También con el aumento de la tasa de CO₂ en los tubos de cultivo o aumentando las intensidades de luz, para producir el establecimiento autotrófico in vitro

3.11 Anatomía de las Plantas Cultivadas In Vitro y su Influencia Sobre la Aclimatación

El ambiente in vitro es conocido por inducir modificaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas en las plantas micropropagadas. Esas plantas son generalmente susceptibles a la deshidratación rápida cuando se exponen a baja humedad relativa (**Gribaudo et al, 2001**).

Por su parte **Ritchie et al (1 991)** indican que las plantas micropropagadas son cultivadas bajo altos niveles de humedad relativa, causando anomalías morfológicas, particularmente en el estoma y la cutícula, produciendo un alto porcentaje de mortalidad en la transferencia al invernadero.

Brainerd y Fuchigami (1981) señalan que las hojas de plantas micropropagadas pueden tener menos cera epicuticular, células en empalizada más pequeñas, y más espacios aéreos en el mesófilo.

3.12 Factores Morfológicos que Influyen en la Aclimatación

Brainerd et al. (1981), demuestran que la anatomía de la hoja es influenciada por la luz y la humedad. Las hojas desarrolladas a altas intensidades de luz tienen células empalizadas en mayor cantidad y más grandes que aquellas en condiciones de sombra, situación que se asemeja al de las plantas in vitro. Las hojas desarrolladas en baja humedad relativa tienen espacios intercelulares pequeños. Las plantas crecidas en alta humedad relativa tienen un pobre desarrollo de cera epicuticular, y altas tasas de transpiración en aire seco.

Plantas creciendo bajo condiciones heterotróficas in vitro, tienen bajas tasas de fotosíntesis. Esto es debido a las bajas intensidades de luz, bajas concentraciones de CO₂. (**Infante et.al., 1989**) y la inhibición de la fotosíntesis por la alta concentración de azúcar en el medio. No obstante, después de transferirlas a las condiciones ex vitro, la mayoría de las plantas micropropagadas desarrollan un aparato fotosintético funcional, aunque el aumento en la intensidad de la luz no es linealmente traducido en un incremento de la fotosíntesis (**Kozai, 1991**).

En las plántulas in vitro, la respuesta a la fotosíntesis en condiciones de luz, es similar a la de las plantas de sombra, caracterizadas por tasas fotosintéticas y de compensación de luz bajas y puntos de saturación también bajos.

La anatomía de las hojas es de acuerdo con las características fisiológicas

mencionadas, ya que el efecto de la luz en el desarrollo del mesófilo, principalmente en el parénquima en empalizada, es ciertamente el factor determinante anatómicamente. Sin embargo, las deficiencias en las estructuras de los cloroplastos (desarrollo de grana), el nivel bioquímico y la baja en la actividad de la Rubisco, también contribuyen a limitar la actividad fotosintética (Amancio et al, 1999).

Amancio et al (1999), además confirman que cuando las plantas son transferidas a condiciones in vivo, a radiaciones más altas, puede ocurrir estrés de luz, incluyendo la fotoinhibición, la fotooxidación de la clorofila, lo último siendo revelado por clorosis y manchas secas que aparecen en la hoja. No obstante, algunas especies toleran mayores radiaciones que aquellas in vitro, sin mayor estrés.

El control y la optimización de la luz, es entonces esencial para la aclimatación satisfactoria, aumentar la tasa de sobrevivencia y el desarrollo de nuevas estructuras. Por otra parte, existe la evidencia que un alto nivel de azúcar en las células puede inhibir la síntesis de clorofila. Los factores limitantes para la fotosíntesis de plantas cultivadas in vitro, son la baja concentración de CO₂ en la atmósfera del tubo de cultivo y la baja intensidad de luz.

El aumento simultáneo de estos factores generalmente hace posible mejorar la actividad de la fotosíntesis in vitro. (Slavtcheva y Dimitrova, 2000).

La captación de CO₂ neto por parte de las plantas in vitro, es pequeña debido a la baja tasa de éste dentro del tubo de crecimiento. Es más, los azúcares que se suplementan al medio de crecimiento pueden causar una inhibición extensa de la fotosíntesis.

Van Huylenbroeck y Debergh (1996), indican que lo importante en las plantas in vitro, son las reservas de hidratos de carbono para superar el estrés del trasplante.

Investigaciones recientes han mostrado que el estrés del trasplante es debido primeramente al estrés hídrico, el cual puede ser combatido exitosamente por algunas especies de plantas con alta humedad después del trasplante.

La pobre formación de cera epicuticular y cuticular, y el reducido control estomático comparado con las plantas control aclimatadas en invernadero, contribuye a la desecación de las plantas transferidas (**Donnelly y Vidaver, 1984**).

La pérdida de agua en plantas micropropagadas durante la aclimatación, se ha atribuido principalmente al mal funcionamiento de los estomas y a una reducida deposición de cera epicuticular (**Gribaudo et al, 2001**).

3.13 Hormonas y Reguladores de Crecimiento

Se llama hormona o fitohormona a aquellas sustancias orgánicas naturales que a bajas concentraciones ejercen una profunda influencia en los procesos

fisiológicos de la planta (**Hopkins, 1999**), mientras que las sustancias sintéticas con las mismas propiedades son llamadas reguladores de crecimiento, y no son consideradas como hormonas vegetales (**Dodds y Roberts, 1995**).

Se conocen cinco grupos de hormonas: auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido absínico y etileno (**Hopkins, 1999**). De estas las auxinas y citoquininas son las más usadas en el cultivo de callos, mientras las giberelinas son usadas con poca frecuencia y generalmente en cultivos de meristemos apicales. De igual modo el ácido absínico y el etileno se usan con poca frecuencia (**Dodds y Roberts, 1995**).

3.13.1 Auxinas

Las auxinas (del griego auxein = incrementar) fueron identificadas por primera vez por Went en 1926, quien describió la acción elongadora del IAA en coleóptidos de avena. Posteriormente se hallaron mas auxinas naturales, de las cuales la más usada en cultivo de tejidos es el IAA, y otras sintéticas o reguladores de crecimiento de las cuales las más usadas son el 2,4-D, el NAA y el IBA (**Krikorian, 1991**).

Los efectos de las auxinas más importantes para el cultivo de tejidos son el crecimiento celular y la elongación celular. Algunos tejidos sólo forman callos en respuesta a una auxina en particular, siendo a veces necesario utilizar altas concentraciones de auxina para la iniciación del callo, aunque

en el caso del 2,4-D, se ha observado efectos inhibitorios a concentraciones mayores a 1 mg/litro.

3.13.2 Ácido Indol Butírico (AIB).

Es miembro de un grupo de hormonas vegetales; son sustancias naturales que se producen en las partes de las plantas en fase de crecimiento activo de la raíz y regulan aspectos del desarrollo radicular. Afectan al crecimiento de las raíces y por consiguiente una buena raíz un crecimiento paulatino de la planta.

El AIB influye en el crecimiento de este órgano vegetal estimulando la elongación o alargamiento de ciertas células e inhibiendo el crecimiento de otras, en función de la cantidad de AIB en el tejido vegetal y su distribución (Gonzales, 2006).

a. Función del AIB.

- El AIB realiza gran aporte a la planta desde lo que es a controlar la división celular.
- El desarrollo de las técnicas de cultivo de tejidos fue posible gracias a la acción del AIB sobre la división celular porque gracias a ello se tiene tan importante hormona para enraizar.

- El proceso de rizogénesis está íntimamente ligado con la división celular, siendo práctica normal en horticultura y, sobre todo, en los viveros, aplicar AIB a los esquejes para favorecer el enraizado.
- Hay otros muchos procesos de correlación, como la dominancia apical e inhibición del crecimiento de yemas laterales; inducen el desarrollo del sistema radicular y aéreo; inducen el crecimiento de los frutos (biosíntesis de etileno, cuaje y maduración); estimulan la formación de flores, frutos (partenocárpicos en ocasiones), raíces y semillas; fototropismo o procesos de abscisión o caída de los frutos en que también las auxinas juegan un papel importante (**Gonzales, 2006**).

b. Importancia del Ácido Indol Butírico

Según **Rojas (1993)**, menciona que el efecto del ácido indolbutírico (AIB) sobre las células vegetales es importante para controlar las funciones llamadas tropismos. Se llama tropismo a la respuesta de una planta a estímulos externos y causa el cambio de la dirección de crecimiento; los tropismos se materializan en inclinaciones, giros o curvaturas del tallo.

Al recibir más AIB, las células de este lado más oscuro se alargan más que las del soleado y hacen que la planta se incline hacia la luz. (**Al-Juboory et al, 1991**).

Un buen entendimiento de los hábitos de crecimiento y desarrollo de

los cultivos y variedades en cuestión, permite la obtención de buenos resultados, de esta manera podemos establecer rangos, en la concentración de AIB para su uso, en plantas herbáceas, la dosis a usar es de hasta 1000 ppm., en plantas semileñosas hasta 3000 ppm. Y en plantas leñosas arriba de las 3000 ppm (**Azvon y Talon, 1996**).

c. Mecanismo de acción.

El AIB provoca la elongación celular. La aplicación de AIB a plantas intactas no incrementa la elongación de las células de manera uniforme es de forma variado.

En una planta normal, aunque los niveles de AIB no son uniformes en todos los Tejidos, aparentemente se encuentran en los niveles ideales pero muchas veces no son las cantidades adecuadas las que se tienen y se opta por utilizar una hormona sintética (**Raisman, 2005**).

3.14 Sustrato

El término “sustrato”, que se aplica en la producción viverística, se refiere a todo material sólido diferente del suelo que puede ser natural o sintético, mineral u orgánico y que colocado en contenedor, de forma pura o mezclado, permite el anclaje de las plantas a través de su sistema radicular; el sustrato puede intervenir o no en el proceso de nutrición de la planta allí ubicada.

3.14.1 Propiedades Físicas de los Sustratos

Por propiedades físicas se entienden aquéllas que se pueden ver y sentir, tales como: color, capacidad de retención de humedad, textura, densidad, porosidad, etc. Características físicas como la textura, es una propiedad invariable, al contrario de las propiedades químicas, razón por la cual suele darse más importancia a las propiedades físicas en la selección de los sustratos. Una vez seleccionada la mezcla como medio de cultivo, su composición química puede verse alterada mediante el riego y la fertilización (Hine, 1991).

En suelos y sustratos con texturas finas es necesario adicionar materiales que promuevan un mejor arreglo de los agregados, con el fin de mejorar el movimiento de agua y aire, y al mismo tiempo favorecer la penetración y desarrollo de raíces. La mayoría de los medios de crecimiento poseen dos o tres componentes que cambian adecuadamente las características físicas y químicas deseadas de estos (Hine, 1991).

3.14.1.1 Porosidad

La porosidad o espacio poroso, es la porción del volumen total del suelo que no está ocupado por los sólidos, orgánicos o minerales. Bajo condiciones de campo los espacios porosos están ocupados por aire y agua en proporciones variables (Tineo 1993).

La porosidad varía en un amplio rango de valores, desde un 30% en suelos compactados, hasta cifras del orden del 95% en algunas turbas. En términos generales, los buenos suelos de campo con hierba poseen hasta un 50% de poros, mientras que el sustrato de maceta la porosidad puede alcanzar valores de un 95% o superiores **(Ansonera, 1994)**.

La porosidad y la densidad se ven afectadas por la compactación, pues a medida que aumenta la presión ejercida, el volumen de los poros disminuye, y por lo tanto la porosidad. Al disminuir el volumen total aumenta la densidad aparente del sustrato **(Burés, 1997)**.

La reducción de los poros que se produce al aumentar la compactación hace que disminuya el espacio ocupado por el aire y aumenta la retención de agua, el aumento de la densidad significa problemas porque aumenta la resistencia del suelo a la penetración de las raíces **(Ansonera, 1994)**.

Una mezcla con una elevada porosidad, posee ventajas potenciales de buena aireación y retención de agua. Sin embargo, en la práctica estas condiciones dependen de la distribución del tamaño de poros, pues si estos son muy pequeños existe una excesiva retención de agua y, si por lo contrario son muy grandes,

la porosidad estará ocupada principalmente por aire. **(Ansonera, 1994).**

Un desequilibrio en el tamaño de los poros puede significar asfixia de las raíces por la deficiente disponibilidad de aire y por el exceso de agua dentro de la mezcla de sustrato, si por lo contrario, existe muy poca retención de agua y mucha cantidad de aire dentro del medio, de igual manera, puede representar problemas en la normal actividad fisiológica de la planta **(Ansonera, 1994).**

3.14.1.2 Capacidad de Retención de Agua

La capacidad de retención de agua se define como la diferencia entre la cantidad de agua retenida por el sustrato, después que la fuerza de gravedad ha actuado sobre un suelo saturado por 24 horas **(Ansonera, 1994).**

La capacidad de retención y almacenamiento de agua son distintas en los diferentes suelos. Un déficit o un exceso del agua en el suelo, por tiempo prolongado, puede ocasionar la muerte de la planta por falta de oxígeno o por marchitamiento; el primer caso es más frecuente en suelos de textura arcillosa y el segundo caso en suelos arenosos **(Tineo, 1993).**

La disponibilidad del agua para las planta, depende de la tensión con la cual esta es retenida por las partículas del suelo. A medida que el contenido de agua en el suelo disminuye, ya sea por evaporación o por la absorción de las plantas, éstas requerirán mayor energía para poder absorber agua (**Tineo 1993**).

Aquellos sustratos formados con materiales orgánicos y suelo, poseen una mayor capacidad de retención de agua. Según **Atkins (1983)**, representa un mejor aprovechamiento de los fertilizantes adicionados.

3.14.2 Propiedades Químicas de los Sustratos

La parte química del medio de cultivo es inerte, por lo contrario, interacciona con la solución nutritiva y actúa como reserva de nutrientes. Las propiedades químicas influyen en el suministro de nutrientes a través de la Capacidad de Intercambio Catiónico, la cual depende a su vez, en gran medida de la acidez del sustrato (**Ansonera, 1994**).

Como se dijo anteriormente las características químicas y nutritivas de un sustrato pueden ser modificadas con la adición de fertilizantes y enmiendas

3.14.2.1 Acidez

Los valores de acidez pueden variar de sustrato en sustrato, como por ejemplo las turbas ácidas pueden llegar a tener un pH de 3,

mientras que algunos minerales como la perlita o la vermiculita puede llegar a tener pH de 8. El valor de pH varía en función de la dilución, por lo que a la hora de comprar diferentes sustratos se debe de mantener la misma relación entre el sustrato y el agua (Burés, 1997).

3.14.2.2 Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva (CICE).

La Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva (CICE), es la capacidad de un sustrato de absorber e intercambiar iones positivos. La CICE es la suma de todos los cationes intercambiables y su capacidad de intercambio depende del pH.

Dentro de las reacciones de intercambio de iones, los componentes inorgánicos y la materia orgánica cumplen una función importante. En algunos sustratos los componentes inorgánicos son principalmente arcillas. Estas arcillas se caracterizan por tener cargas negativas y positivas, lo que da lugar a reacciones de intercambio de iones; por ello, aunque se considera que muchos sustratos inorgánicos son inertes, realmente no lo son en su totalidad.

Algunos de los cationes atraídos por estas cargas negativas son, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , H_3O^{+} , y Al^{3+} ; mientras que las cargas positivas

atraen a los siguientes aniones: SiO_4^{4-} , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} y NO_3^- (Bures, 1997).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1 Materiales

4.1.1 Ubicación del Experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en el invernadero de Biotecnología Vegetal de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir", Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA.

a. Ubicación política.

Lugar	:	E.E.A "El Porvenir"
Distrito	:	Juan Guerra
Provincia	:	San Martín
Departamento	:	San Martín.

b. Ubicación Geográfica

Latitud sur	:	5°50' – 5°57'
Latitud oeste	:	77°05' – 77°12'
Altitud	:	230 - 330 m.s.n.m.
Clima	:	bosque seco tropical. (Holdrige, 1970)

4.2. Condiciones Climatológicas del Ambiente de Aclimatación en Invernadero

Cuadro 1: Registro de las condiciones Microclimáticas de invernadero de aclimatación de plántulas de *Manihot esculenta* C.

Date Time	Temperature (°C) (1)	Temperature (°C) (*4)	Temperatura media	RH (%) (1,2)	Punto de rocio (°C) (1,2)	INTENSIDAD LUMINOSA LUX/m2
00:36:43.0	24.40	24.40	24.40	89.50	22.57	10.76
01:36:43.0	24.01	24.01	24.01	89.50	22.18	10.76
02:36:43.0	23.63	23.63	23.63	92.20	22.29	10.76
03:36:43.0	23.24	22.86	23.05	92.20	21.90	10.76
04:36:43.0	22.86	22.48	22.67	95.40	22.09	10.76
05:36:43.0	22.48	22.48	22.48	99.60	22.41	10.76
06:36:43.0	22.48	22.48	22.48	99.60	22.41	43.06
07:36:43.0	24.40	25.95	25.18	95.70	23.66	936.46
08:36:43.0	27.52	29.90	28.71	80.40	23.84	1506.95
09:36:43.0	31.12	35.27	33.20	73.60	25.83	1765.28
10:36:43.0	33.17	37.88	35.53	60.60	24.51	1765.28
11:36:43.0	34.85	40.13	37.49	53.90	24.11	2228.13
12:36:43.0	36.13	41.05	38.59	45.30	22.40	1840.63
13:36:43.0	37.44	42.46	39.95	40.40	21.71	2174.31
14:36:43.0	35.70	35.27	35.49	47.50	22.81	1097.92
15:36:43.0	35.27	38.77	37.02	50.40	23.40	1765.28
16:36:43.0	33.59	34.85	34.22	53.90	22.95	452.08
17:36:43.0	32.34	33.17	32.76	60.30	23.66	172.22
18:36:43.0	30.71	31.12	30.92	61.40	22.42	10.76
19:36:43.0	29.90	29.90	29.90	61.20	21.60	10.76
20:36:43.0	29.10	29.10	29.10	61.70	20.99	10.76
21:36:43.0	29.10	28.70	28.90	64.20	21.65	10.76
22:36:43.0	29.10	28.70	28.90	69.10	22.86	10.76
Promedio	29.24	30.63	29.94	71.20	22.79	689.83

Fuente: Propia (2011).

En el cuadro 1, del registro de las condiciones microclimáticas de invernadero de aclimatación, nos muestra que la temperatura promedio más alta fue de 39°C a las 13:36 horas, dicha hora reporta también la Humedad Relativa más bajos de 40.4%, en este tiempo también se observó que existe una baja en el punto de

rocío siendo de 21.71, en cuanto a la intensidad luminosa la mayor intensidad se reporta en horas de 11:36 am siendo de 2228.13 Lux/m², al observar los datos de lux/m² nos damos cuenta que existe una baja de intensidad en horas de 12:36 pm siendo de 1840.63 Lux/m², esto debido a que el sol se encuentra por encima del techo del invernadero.

4.3. Metodología del Experimento

4.3.1. Diseño experimental

Para el presente trabajo de investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 4 x 3, que da como resultado 12 tratamientos y 54 plántulas por tratamiento.

Factor A: Concentraciones de Ácido Indol Butírico (AIB)

Niveles:

- a_0 : 0ppm
- a_1 : AIB 1000 ppm (4900 μ M)
- a_2 : AIB 2000 ppm (9800 μ M)
- a_3 : AIB 3000 ppm(14700 μ M)

Factor B: Conductividad Eléctrica del Fertilizante Foliar.

Niveles:

- b_0 : 1.6 mmhos
- b_1 : 2.2 mmhos
- b_2 : 2.8 mmhos

Cuadro 2: Tratamientos en estudio.

N°	Factor A (Concentración de AIB)	Factor B (C.E. de fertilizante foliar)	Interacción Factor A x B	Tratamiento	Simbología
1	0 ppm	1.6 mmhos	a_0b_1	T1	Y01
2	0 ppm	2.2 mmhos	a_0b_2	T2	Y02
3	0 ppm	2.8 mmhos	a_0b_3	T3	Y03
4	1000 ppm	1.6 mmhos	a_1b_1	T4	Y11
5	1000 ppm	2.2 mmhos	a_1b_2	T5	Y12
6	1000 ppm	2.8 mmhos	a_1b_3	T6	Y13
7	2000 ppm	1.6 mmhos	a_2b_1	T7	Y21
8	2000 ppm	2.2 mmhos	a_2b_2	T8	Y22
9	2000 ppm	2.8 mmhos	a_2b_3	T9	Y23
10	3000 ppm	1.6 mmhos	a_3b_1	T10	Y31
11	3000 ppm	2.2 mmhos	a_3b_2	T11	Y32
12	3000 ppm	2.8 mmhos	a_3b_3	T12	Y33

Fuente: Elaboración Propia (2011)

4.4. INSTALACIÓN DEL EXPERIMENTO

4.4.1. PROPUESTA DE PROTOCOLO DE ACLIMATACIÓN

a) Selección de material vegetal.

Se seleccionaron plántulas de yuca *Manihot esculenta* C., propagadas *in vitro* a partir de segmentos nodales. Para este proceso se utilizó plántulas de 14 días de incubación, los que pasaron otros 21 días en el invernadero realizando el proceso de pre aclimatación, para la selección de aclimatación se tuvo en cuenta que las plántulas tengan como mínimo 2 hojas verdaderas.

b) Preparación de Sustrato.

Se utilizó como sustrato tierra negra más arena lavada en proporciones de 3:1 (tres partes de tierra negra y uno de arena), luego se realizó el

zarandeo del sustrato, para luego ser esterilizado a 15 libras de presión por 15 minutos en calor húmedo (autoclave).

c) Desinfección de materiales de aclimatación.

Se utilizó bandejas aclimatadoras de 54 plugs, previa desinfección con hipoclorito de sodio (NaCl_2) al 1% por 10 minutos, transcurrido este el tiempo de desinfección se enjuagó y se dejó secar. Las bandejas aclimatadoras fueron llenadas con el sustrato estéril y se procedió a realizar un pequeño hoyo donde se colocó la parte radical de la plántula a aclimatar.

d) Preparación de Inductores de crecimiento.

Se utilizó como inductores de crecimiento el ácido indol butírico (AIB) con tres concentraciones cada uno (1 000, 2 000, 3 000 ppm). Para esto se utilizó la formula $C_1V_1 = C_2V_2$.

e) Siembra de material vegetal seleccionado.

Se sembraron plántulas pre aclimatadas en las bandejas aclimatadoras, colocando una planta por plugs, previo lavado, desinfectado y tratados con inductores de crecimiento.

f) Preparación y aplicación de Solución fertilizante.

Se utilizó una solución fertilizante foliar a base de NPK 20-20-20 mas micro elementos con tres conductividades eléctricas (1.6, 2.2, 2.8). Para la

preparación de dichas soluciones se utilizó agua destilada que tiene una conductividad eléctrica de 0.006 Ms.

g) Control fitosanitario

Se realizó un control fitosanitario de plagas y enfermedades en forma preventiva utilizando como producto al 2-(metoxicarbonilamino) bencimidazol (Carbendazin) y aplicación de nutrientes foliares. Durante la etapa de aclimatación, según calendario fitosanitario establecido, estas aplicaciones fueron semanales.

4.5. Variables Evaluadas

4.5.1. Porcentaje de supervivencia. Se evaluó el porcentaje de supervivencia de las plántulas en forma semanal.

4.5.2. Altura de la plántula. Se midió la longitud de las plántulas desde la base del tallo hasta la parte apical, para la cual se tomaron todas las plantas por tratamiento. La evaluación se realizó desde la siembra de las plántulas hasta el final de la etapa de aclimatación, una vez por semana.

4.5.3. Número de raíces. Se evaluó el número de raíces al inicio y al final de la etapa de aclimatación, de las diez plántulas por tratamiento, de cada bloque respectivo.

4.5.4. Número de hojas. Para la evaluación de esta variable se tuvo en consideración todas las hojas de las 10 plántulas evaluadas por tratamiento y por bloque, se contó el número de hojas al inicio y al final de la etapa de aclimatación.

V. RESULTADOS

5.1 Protocolo de aclimatación.

En el desarrollo de la presente investigación la metodología planteaba el desarrollo de una propuesta de protocolo de aclimatación para *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero, quedando como sigue:

- ✓ Utilizar plántulas con dos hojas verdaderas.
- ✓ La proporción de sustrato 3:1 (Tierra agrícola: arena lavada), tamizar el sustrato con malla de 1 /2". , esterilizarlo a 15 libras de presión por 15 minutos (Autoclave).
- ✓ Desinfección de las bandejas aclimatadoras, con hipoclorito de sodio (NaCl_2), al 1% por 10 minutos, enjuagar y dejar secar en sombra.
- ✓ Utilizar como inductor de crecimiento el Ácido Indol Butírico (AIB), con concentración de 3000ppm.
- ✓ Aplicar solución de fertilizante foliar 20-20-20, mas microelementos con conductividades eléctricas de 2.2 y/o 2.8 mmhos.
- ✓ El control fitosanitario de plagas y enfermedades en forma preventiva utilizando preventiva utilizando como producto al 2-(metoxicarbonilamino) bencimidazol (Carbendazin) y aplicación de nutrientes foliares.

El análisis estadístico de los datos de las variables evaluadas se realizó utilizando el programa estadístico de SAS v9.1, y se muestran a continuación:

5.2. Porcentaje de supervivencia de plántulas aclimatadas en Invernadero.

Cuadro 3: Análisis de varianza para porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

F de V	GL.	S.C.	C.M.	F.C.	Significancia
Tratamientos	11	27,6096889	13,8048	0,62	N.S.
A (Dosis AIB)	3	99,6249111	33,2083	1,63	N.S.
B (C.E)	2	37,1646889	18,5823	0,91	N.S.
AB (AIB x C.E)	6	104,735822	17,456	0,86	N.S.
Error	24	488,273244	22,1942		
Total	35	757,4083553			

N.S. = No significativo

Fuente: Elaboración propia

$R^2 = 35,53\%$
 $C.V. = 4,95\%$
 $\bar{X} = 95,12\%$

Grafico 1: No Interacción de factores AxB para porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

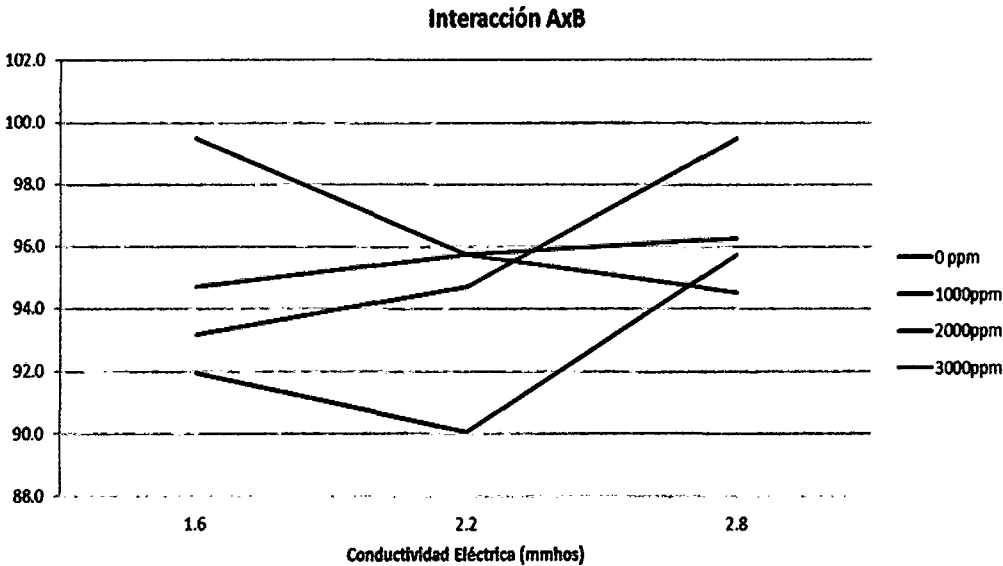


Grafico 2: No Interacción de factores BxA para porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

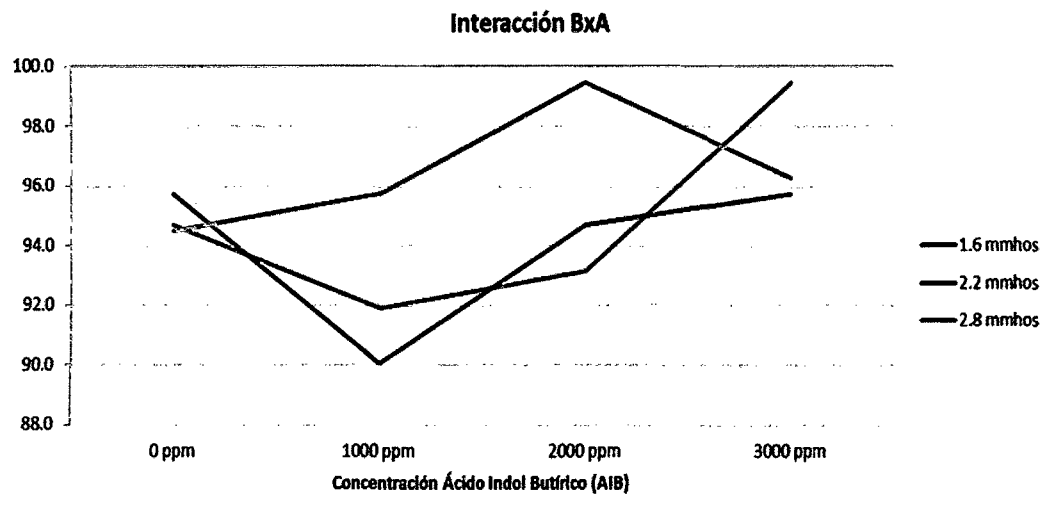
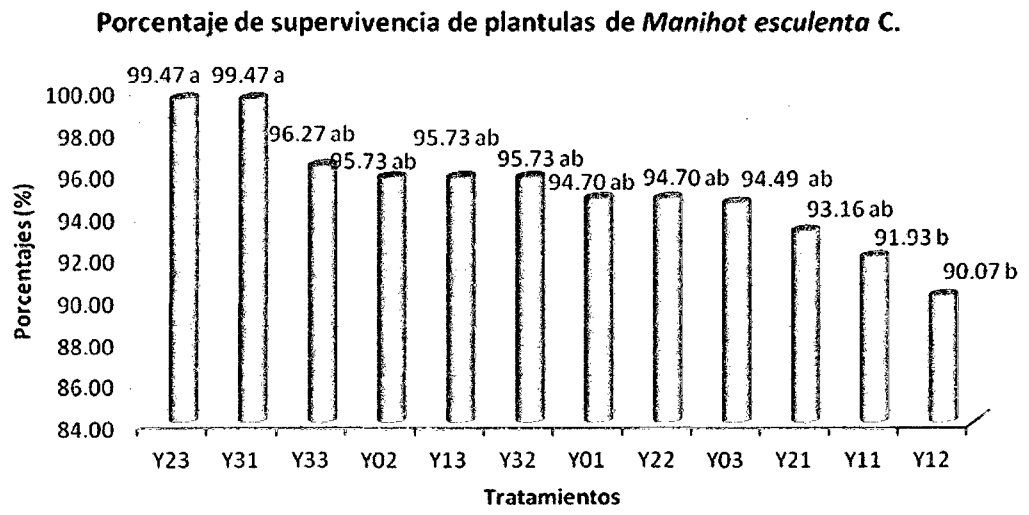


Gráfico 3: Prueba de Duncan al 0.05%, para el porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.



Fuente: Elaboración propia.

5.3. Altura de planta (cm)

Cuadro 4: Análisis de varianza para altura de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. (cm), aclimatadas en Invernadero.

F de V	GL.	S.C.	C.M.	F.C.	Significancia
Tratamientos	11	1,250000	0,113636	7,15	**
A (Dosis AIB)	3	1,19053333	0,39684	24,97	**
B (C.E)	2	0,03335556	0,01668	1,05	N.S.
AB (AIB x C.E)	6	0,02673333	0,00446	0,28	N.S.
Error	24	0,349578	0,01589		
Total	35	2,36288889			

Fuente: Elaboración Propia

** = Altamente significativo

$R^2=85,21\%$ C.V. = 2,88% $\bar{X}= 4,37$ cm

Grafico 4: No Interacción de factores AxB para altura de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

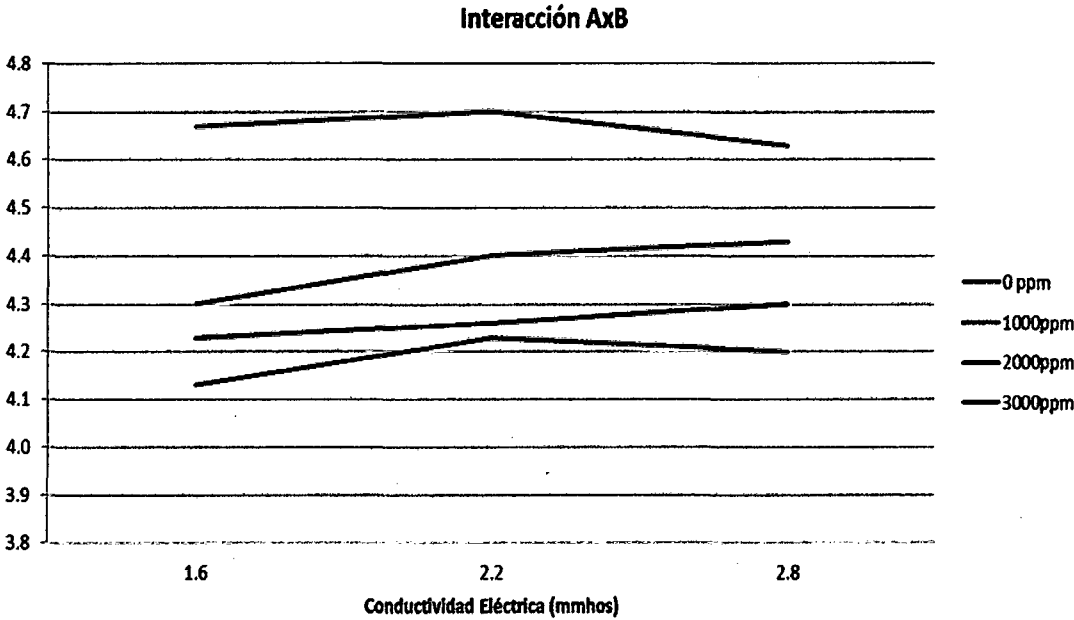


Grafico 5: No Interacción de factores BxA para altura de planta in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

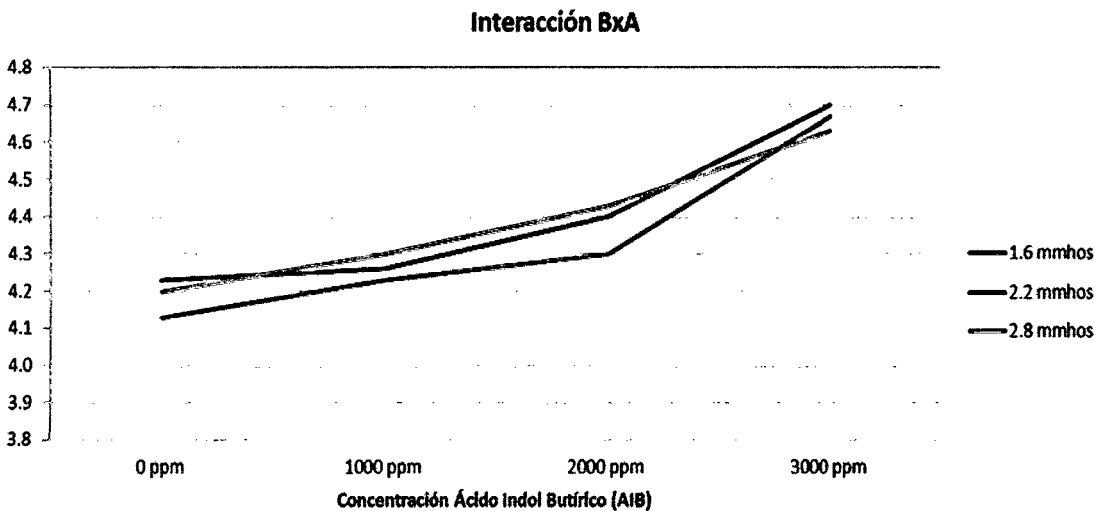
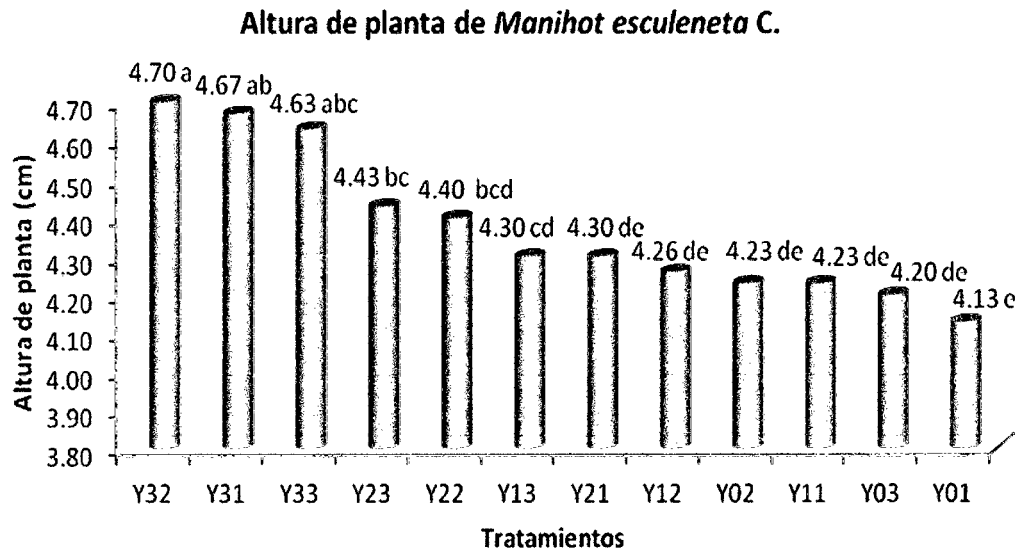


Grafico 6: Prueba Duncan al 0.05% para la altura de plántulas (cm) in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.



Fuente: Elaboración propia.

5.4. Número de raíces.

Cuadro 5: Análisis de varianza del número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

F de V	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Significancia
Tratamientos	11	31,89	2,8990	3,20	**
A (Dosis AIB)	3	29,444444	9,8148	10,83	**
B (C.E)	2	1,055556	0,5278	0,58	N.S.
AB (AIB x C.E)	6	1,388889	0,2315	0,26	N.S.
Error	24	19,944440	0,9066		
Total	35	208,555551			

**= Altamente Significativo;

N.S. =No significativo

Fuente: Elaboración Propia

R²= 90,44%

C.V. =12,88%

X= 7,38 raíces

Grafico 7: No Interacción de factores Ax B para número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

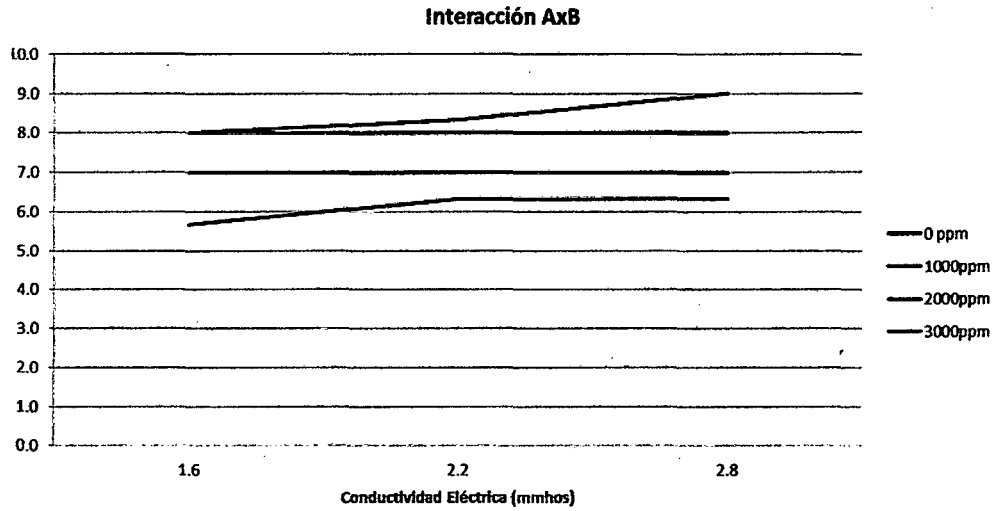


Gráfico 8: No Interacción de factores BxA para número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.

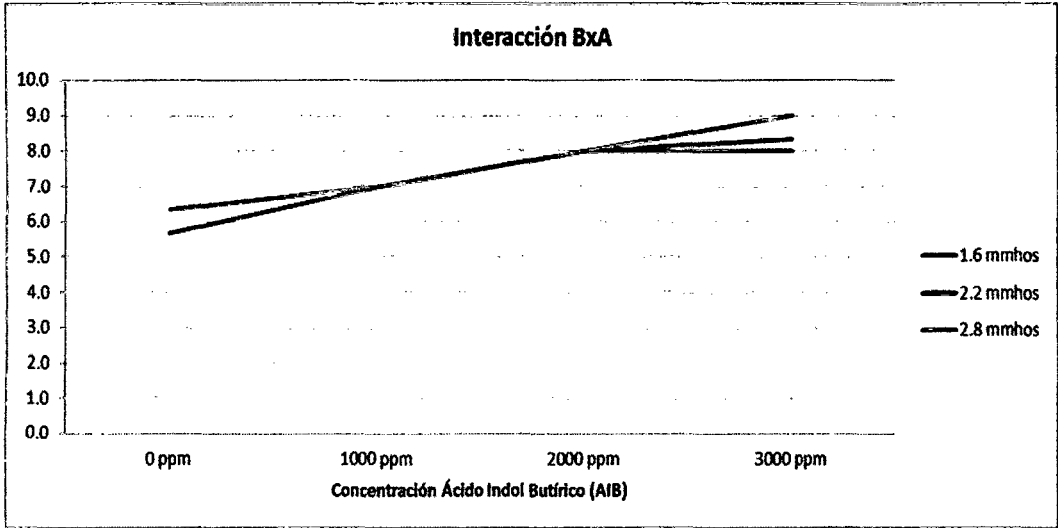
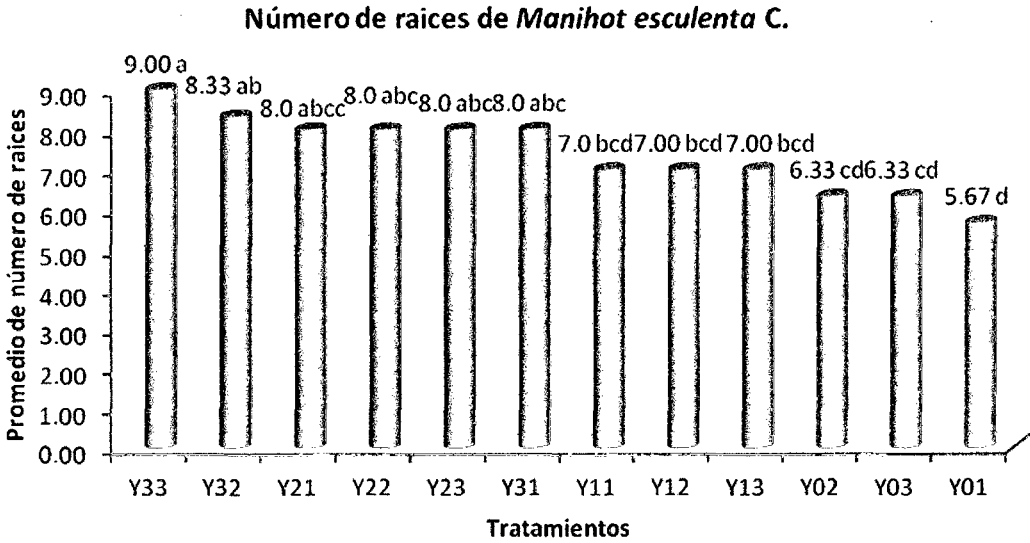


Gráfico 9: Prueba de Duncan al 0.05% para el número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.



Fuente: Elaboración Propia.

5.5. Número de hojas

Cuadro 6: Análisis de varianza para número de hojas de plántulas *in vitro* de *Manihot esculenta* C, aclimatadas en Invernadero.

F de V	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Significancia
Tratamientos	11	3.89	0.35363	1.52	**
A (Dosis AIB)	3	2.77777777	0.92593	3.99	*
B (C.E)	2	0.388888889	0.19444	0.84	Ns
AB (AIB x C.E)	6	0.72222222	0.12037	0.52	Ns
Error	22	5.111111	0.23232		
Total	35	23.88888879			

Fuente: Elaboración Propia

R²=78.60%

C.V.= 9.75%

X= 4.94 hojas

Grafico 10: No Interacción de factores AxB para número de hojas de plántulas *in vitro* de *Manihot esculenta* C, aclimatadas en Invernadero.

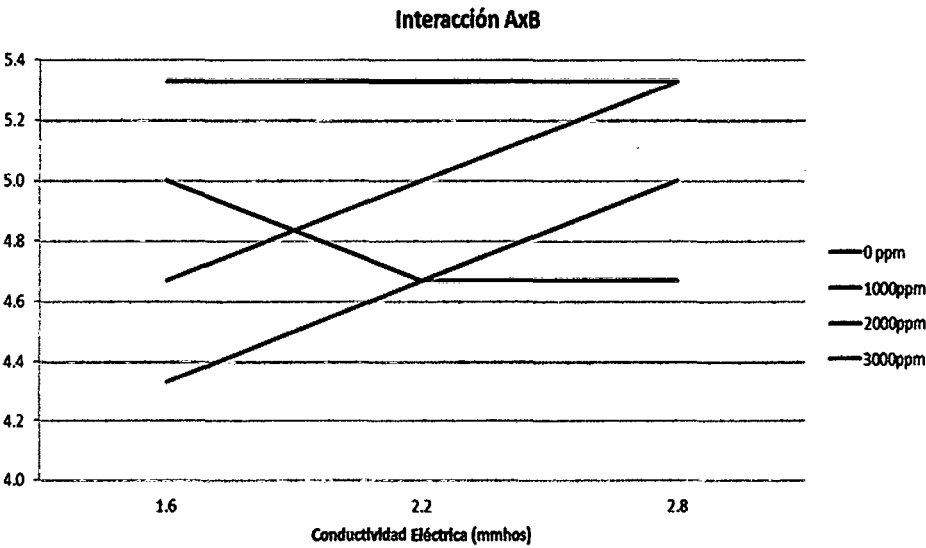


Grafico 11: No Interacción de factores BxA para número de hojas de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C, aclimatadas en Invernadero.

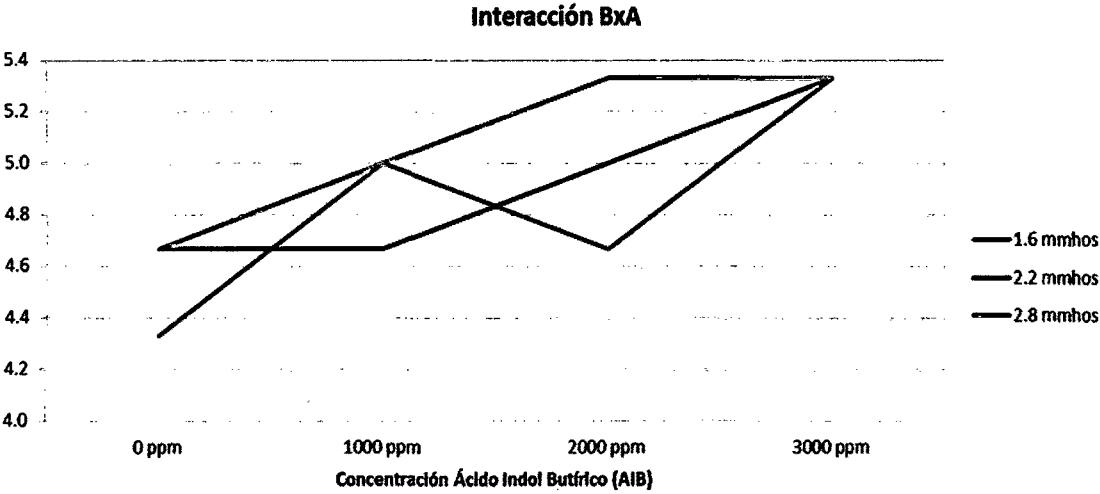
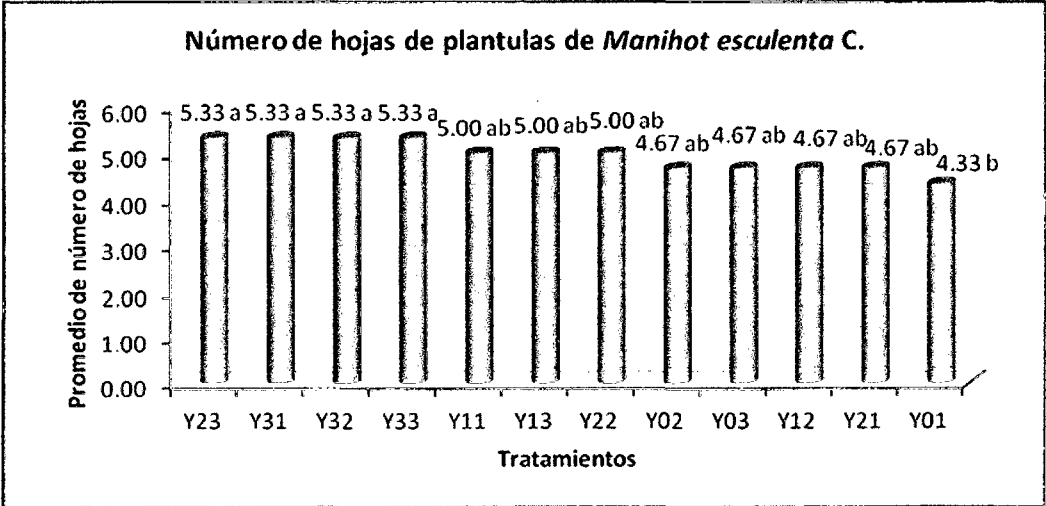


Gráfico 12: Prueba de Duncan al 0.05, para el número de hojas de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en Invernadero.



Fuente: Elaboración Propia.

VI. DISCUSIÓN.

6.1. Porcentaje de supervivencia.

El cuadro 3, se muestra el análisis de varianza para porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C., donde reporta un resultado no significativo para los factores en estudio y la no interacción de los mismos. Así mismo, el coeficiente de determinación ($R^2=35,53\%$), resultó ser por debajo de lo permitido, lo que indica la poca relevancia e influencia de los factores en la variable evaluada, por su parte el coeficiente de variabilidad (C.V.=4,95%), lo que demuestra que existió una precisión en la toma de datos y homogeneidad entre los tratamientos, encontrándose dentro del rango aceptable para experimentos realizados en invernadero.

Los gráficos 1 y 2, muestran la no existencia de interacción de los factores AxB y BxA respectivamente, como lo demuestra el análisis de varianza en cuanto a la interacción la no significancia, donde se aprecian que existe una dispersión uniforme de los datos, lo que lleva a que los factores actúen de una forma independiente, mostrando que otros han sido los factores que influenciaron en el porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero.

El gráfico 3, muestra la prueba de Duncan para porcentaje de supervivencia de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero; donde se aprecia que los tratamientos Y23 (2 000 ppm con 2.8 de C.E.), Y31 (3 000 ppm con 1.6 de C.E.), Y33 (3 000 ppm con 2.8 de C.E.), Y02 (0 ppm con 2.2 C.E.),

Y13(1000 ppm con 2.8 de C.E.), Y32 (3 000 ppm con 2.2 de C.E.), Y01 (0 ppm con 1.6 de C.E.), Y22 (2 000 ppm con 2.2 de C.E.), Y03 (0 ppm con 2.8 de C.E.) y Y21 (2 000 ppm con 1.6 de C.E.), obtuvieron los promedios más altos de supervivencia con 99,47; 99,47; 96,27; 95,73; 95,73; 95,73; 94,70; 94,70; 94,49; 93,16 por ciento respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre ellos; siendo el tratamiento Y11 (1 000 ppm con 1.6 de C.E.) y Y12 (1000ppm con 2.2 de C.E.), son los que obtuvieron los más bajos porcentajes de supervivencia con 91,23 y 90.07 por ciento respectivamente. En general todos los tratamientos muestran promedios superiores al 90 por ciento de supervivencia.

Estos resultados corroboran lo mencionado por **Brainerd y Fuchigami (1981)**, quienes mencionan que la aclimatación de plantas in vitro a las condiciones naturales, es un paso crítico para muchas especies, sin embargo superaron estas condiciones.

Así mismo **Fila et al.(1998)**, señalan que la aclimatación puede ser mejorado modificando el microambiente durante el desarrollo in vitro, por ejemplo reduciendo la humedad relativa que causa un endurecimiento de la planta, mejorando los resultados durante el trasplante; por el alto porcentaje de supervivencia de plántulas las condiciones de invernadero de la estación experimental resultaron relevantes para lograr estos resultados muy interesantes, el cuadro 1, de las condiciones climatológicas del ambiente de aclimatación en invernadero muestra que la humedad relativa fluctuó entre 99,60 y 40,40 % indicador muy importante para la aclimatación exitosa de las plantas en invernadero con la cual se encontró resultados muy favorables.

6.2. Altura de planta (cm).

El cuadro 4, muestra el análisis de varianza para altura de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero, donde se aprecia que existe diferencia altamente significativas para los tratamientos en general, siendo el factor A(Dosis de AIB) quien muestra las altas diferencias de altura encontradas, así mismo muestra una diferencia no significativa para el factor B(C.E.) que no ha variado obteniendo igual conductividad eléctrica, del mismo modo no hay interacción de los factores AxB y BxA. Por su parte, el coeficiente de determinación ($R^2=85,21\%$), es alto, lo que determina la alta relevancia e influencia de los factores evaluados en esta variable evaluada; por su parte el coeficiente de variabilidad (C.V.=2,88%), demuestra que existió alta precisión en la toma de datos y muy buena homogeneidad de los tratamientos, encontrándose dentro del rango aceptable para experimentos realizados en invernadero.

Los gráficos 4 y 5, muestran que en cuanto ala interacción de Factores AxB y BxA respectivamente donde se aprecia que no existe interacción de factores, como lo demuestra el análisis de variancia en cuanto a la interacción la no significancia y corrobora que el factor A (Dosis de AIB) actúa en forma conjunta para lograr la altura de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero. Así mismo demuestra la importancia del Ácido Indol Butílico (AIB), utilizando la dosis de 3 000 ppm de AIB con C.E. que van de 1.6, 2.2 a 2.8 mmhos, alcanzamos siempre las mayores alturas de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero y utilizando 0 ppm de AIB con C.E que van de 1.6

a 2.8 mmhos alcanzamos siempre las menores alturas de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero.

El gráfico 6, muestra la prueba de Duncan para altura de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero, donde se aprecia que los tratamientos Y32 (3 000ppm con 2,2 mmhos.), Y31 (3 000ppm con 1.6 mmhos.) y Y33 (3000ppm con 2.8mmhos), obtuvieron las mayores alturas de plantas con 4,70cm., 4,67cm. y 4,63 cm. respectivamente.

Estos resultados corroboran lo mencionado por **Al-Juboory et al (1 991)**, quien menciona que el AIB, controla las funciones llamadas tropismo, pues al recibir mas AIB, estas comienzan a realizar la división celular aun más acelerado cuando estas se encuentran en zonas de poca luz.

Así mismo **Gonzales (2006)**, menciona que el AIB afecta al crecimiento de las raíces y por consiguiente una buena raíz se traduce en un buen crecimiento paulatino de la planta, estimulando la elongación o alargamiento de ciertas células e inhibiendo el crecimiento de otras, en función de la cantidad de AIB en el tejido vegetal y su distribución.

6.3. Número de raíces.

El cuadro 5, muestra el análisis de varianza para el número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. donde se observa una alta significancia para los tratamientos en general, donde el factor A (Dosis de AIB) muestra esta alta diferencia significativa, existiendo variabilidad entre los niveles evaluados y no significativo para el factor B (C.E.), siendo igual su acción y tampoco hay interacción entre ambos factores en estudio. Por su parte, el

coeficiente de determinación ($R^2=90,44\%$), es alto, lo que muestra la alta relevancia e influencia de los factores en esta variable evaluada, por su parte el coeficiente de variabilidad (C.V.=12,88%), demuestra que en cuanto a la toma de datos no hubo la precisión esperada, encontrándose fuera del rango aceptable para experimentos realizados en invernadero y tampoco homogeneidad de los tratamiento.

Los gráficos 7 y 8, muestran la no existencia de interacción de Factores AxB y BxA respectivamente, como lo demuestra el análisis de variancia en cuanto a la interacción la no significancia y la cual corrobora que el factor A (Dosis de AIB) actúa en forma variable los niveles de dosis de AIB para lograr el mayor número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero.

Así mismo demuestra la importancia del Ácido Indol Butílico (AIB), utilizando la dosis de 3 000ppm de AIB con C.E. de 2.2 y 2.8 de C. E., alcanzamos siempre el mayor número de raíces de plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero y utilizando 0 ppm de AIB con C.E de 1.6 a 2.8 mmhos alcanzamos siempre las menores cantidades de raíces en plantas in vitro de *Manihot esculenta* C. en invernadero.

El gráfico 9, muestra la prueba de Duncan para número de raíces de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero, donde se aprecia que el tratamiento Y33 (3000 ppm de AIB con 2.8 de C.E) y Y32 (3000 ppm con 2.2 C.E., obtuvieron 9,00 y 8, 33 raíces en promedio superando a los demás tratamientos en estudio, encontrándose que el Y01 (0 ppm con 1.6 de C. E.), fue el que obtuvo el menos número de raíces con 5.67 respectivamente.

Los tratamientos sin aplicación de AIB, reportaron los promedios más bajos del

experimento; estos valores corroboran lo mencionado por **Gonzales (2006)**, esta hormona promueve la rizogénesis, la cual está íntimamente ligada a la división celular, por lo cual esta hormona siempre es usada para favorecer el enraizamiento de esquejes.

Estas raíces al desarrollarse, inicialmente forman un sistema fibroso y que algunas (generalmente menos de 10) inician el engrosamiento y se convierten en raíces tuberosas como la manifiesta **CEBALLOS Y DE LA CRUZ (2009)**.

6.4. Número de hojas

El cuadro 6, nos muestra el análisis de varianza para el número de hojas de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en vivero, donde se aprecia la alta diferencia significativa para los tratamientos en general, diferenciándose significativamente el factor A (Dosis de AIB) y la diferencia no significativa para el factor B (C.E.) y no encontrando interacción de ambos factores.

Así mismo coeficiente de determinación ($R^2=78,60\%$), es alto, lo que muestra la alta relevancia e influencia de los factores en esta variable evaluada, por su parte el coeficiente de variabilidad (C.V.=9,75%), demuestra que existió una precisión en la toma de datos y homogeneidad de los tratamientos, encontrándose dentro del rango aceptable para experimentos realizados en invernadero.

Los gráficos 10 y 11, muestran con respecto a la interacción de Factores AxB y BxA respectivamente donde se aprecia que no existe interacción de factores, como lo demuestra el análisis de variancia en cuanto a la interacción la no

significancia y corrobora que el factor A (Dosis de AIB) actúa en forma independiente para lograr el mayor número de hojas de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C., y el factor B no hubo variabilidad en sus niveles en la evaluación en invernadero; sin embargo existe una dispersión uniforme de los datos, mostrando que es posible que otros han sido los factores que influenciaron en el número de hojas. Así mismo las concentraciones de 3 000, 2 000, 1 000 con 1.6, 2.2, 2.8 y 0 ppm con 2.2 y 2.8 mmhos de ácido indol butírico, tuvieron mayor influencia en esta variable con promedios de 5,33 hasta 4,67 número de hojas, respecto al Y01 (0 ppm con 1.6 de C.E.), quien obtuvo el más bajo número de hojas con un promedio de 4,33; debido a que esta hormona provoca la elongación celular como lo reporta, (Raisman, 2005).

De igual manera VIDALIE (1986), menciona que factores como la luz, temperatura y humedad relativa son los principales factores del ambiente sobre los cultivos; por otro lado corrobora lo mencionado por Al-Juboory et al. (1991). Que Al recibir más AIB, las células de este lado más oscuro se alargan más que las del soleado y hacen que la planta se incline hacia la luz.

El gráfico 12, muestra la prueba de Duncan para el número de hojas de plántulas in vitro de *Manihot esculenta* C. aclimatadas en invernadero, donde se aprecian que los tratamientos Y23 (2 000 ppm de AIB con C.E. de 2.8), Y31 (3 000 ppm de AIB con C.E. de 1.6), Y32 (3 000 ppm de AIB con C.E. de 2.2), Y33 (3 000 ppm de AIB con C.E. de 2.8), Y11 (1 000 ppm con 1.6 de C.E.), Y13 (1 000 ppm con 2.8 de C.E.), Y22 (2 000 ppm con 2.2 de C.E.), Y02 (0 ppm con 2.2 de C.E.), Y03 (0 ppm con 2.8 de C.E.), Y12 (1 000 ppm con 2.2 de C.E.), Y21 (2 000 ppm con 1.6 de C.E.), obtuvieron el mayor número de hojas con

5.33 Hasta 4.67 hojas en promedio; el tratamiento Y01(0 ppm con 1.6 mmhos) obtuvo el menor número de hojas con 4.33 en promedio.

importantes pues es el sustento básico de donde la planta extraerá los nutrientes necesarios todo esto corrobora lo mencionado por **(Tineo 1993), Ansonera 1994), (Bures 1997) y (Hine 1991).**

VII. CONCLUSIONES

- 7.1** Se alcanzó obtener un protocolo, para la aclimatación de plántulas de *Manihot esculenta* C, en vivero, listas para su trasplante a campo definitivo con resultados de supervivencia mayores al 90%.
- 7.2** El efecto de las concentraciones de Ácido Indo Butírico en la aclimatación en invernadero, de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.), ocurre en la división celular, por tal efecto los órganos de las plántulas se vuelven funcionales.
- 7.3** Los niveles de conductividad eléctrica del abono foliar balanceado (20 – 20 – 20) en el experimento fueron de 2.2 y 2.8 mmhos, permitiendo una mejor asimilación de AIB, a concentraciones de 2000 y 3000 ppm, obteniendo plantas con buenas respuesta a la aclimatación.

VIII. RECOMENDACIONES.

- 8.1. Validar este protocolo de aclimatación pues se ha obtenido porcentajes de supervivencia superiores al 90% de plántulas de Yuca (*Manihot esculenta*).
- 8.2. Para la aclimatación de plántulas de Yuca (*Manihot esculenta*), utilizar el Ácido Indol Butírico a una dosis de 3000 ppm, por destacarse con mejor resultados en las variables evaluadas como número de raíces y altura de planta.
- 8.3. Utilizar abonos foliares balanceados (20 – 20 – 20), que tengan conductividad eléctrica de 2.2 y 2.8 los que permiten una mejor asimilación del AIB para la aclimatación de plántulas de Yuca (*Manihot esculenta*).
- 8.4. Continuar realizando otros experimentos que permita añadir el tipo de sustrato con que se trabaja en el área de aclimatación.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. **AGRAMONTE PEÑALVER, D; JIMÉNEZ TERRY, F; DITA RODRÍGUEZ, M.A. 1998.** Aclimatización. En: Pérez Ponce, J. N. (Ed.). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de biotecnología de las plantas. Sta. Clara, Villa Clara. Cuba, pp.193-206.
2. **AL-JUBOORY, K; WILLIAMS, D; SKIRVIN, R. 1991.** Growth reguladores influence root and shoot development of micropropagated algerian ivy. Hortscience 26:1079–1080.
3. **AMANCIO, S., REBORDAO, J. P. and CHAVES, M. M. 1999.** Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: Photosynthetic competence and carbon allocation. Plant Cell Tissue and Organ Culture 58Pág 31-37.
4. **ANSONERA, J. 1994.** Sustratos: Propiedades y caracterización. Madrid, España. Ediciones Mundo Prensa. 172 p.
5. **ATKINS, P. 1983.** For peat's shake, its an excellent medium. Florida Digest, (USA)6 (6): 13- 14.
6. **AZVON, J. y TALON, M. 1996.** Fisiología y bioquímica vegetal. Madrid, España, Pirámide. España. 250 p.

7. **BURÉS, S. 1997.** Sustratos. Madrid, España. Ediciones Agrotécnicas S. L.
342 p.
8. **BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L.J. 1981.** Acclimatization of asseptically cultured apple plants to low relative humidity. Journal of American Society for Horticultural Science, v.196, Pág.515-518.
9. **CEBALLOS, H. 2002.** La yuca en Colombia y el mundo: Nuevas perspectivas para un cultivo milenario. En Ospina B, Ceballos H (Comps.) La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. CIAT. Cali, Colombia. pp. 1-13.
10. **CEBALLOS, HERNÁN. "Y" DE LA CRUZ, GABRIEL A. 2009.** La yuca en el tercer milenio. Capítulo 2: Taxonomía y morfología de la yuca [en línea]. Cali (Valle del Cauca). s.f. Proyecto mejoramiento de yuca. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. p. 28. [Citada en 14 de Noviembre de 2009]. Disponible en internet: URL http://www.clayuca.org/PDF/libro_yuca/capitulo02.pdf
11. **COCK JH. 1984.** Cassava: a basic energy source un the tropics Science 218(4574): 755- 762.

12. **DODDS JH, ROBERTS L.W. 1995.** Experiments in Plant Tissue Culture, 3rd rev ed. Cambridge University Press, Cambridge.
13. **DONNELLY, D and VIDAVER, W. 1984.** Leaf anatomy of red raspberry transferred from culture to soil. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109 (2): 172-176.
14. **DUFOUR, D.1996.** Apoyo al sector almidonero de yuca en Colombia: Impacto del proyecto CIRAD/CIAT. En Montaldo A (Comp.) La yuca frente al hambre del mundo tropical. UCV-CECOTUD-FEDEAGRO-Fondo de Crédito Agropecuario. Maracay, Venezuela. pp. 301-311.
15. **FAO/FIDA, 2000.** La economía mundial de la yuca: hechos tendencias y perspectivas. UN Food and Agriculture Organization. Roma, Italia. 59 pp.
16. **FAO, 2000.** Defensa de la causa de la yuca. www.fao.org/inicio.htm (Cons. 07/2002).
17. **FILA, G., GHASHGHAIE,J., HOARAU, J. and CORNIC, G. 1998.** Photosynthesis, leaf conductance and water relations of *in vitro* cultured grapevine rootstock in relation to acclimatisation. Physiologia Plantarum 102 (3): 411-418.

18. **FREGONI, M. 1986.** Some aspects of epigeal nutrition of grapevines. pp. 205-211. In: A. Alexander (ed.). Foliar fertilization. Proceedings of the First International Symposium of Foliar Fertilization by Schering Agrochemical Division. Berlin. 1985.
19. **GEORGE, E.F. 1987.** Factors affecting growth and morphogenesis. I. Genotype and the physical environment. In: Plant Propagation by Tissue Culture. Part I: The Technology (E. George, ed.), pp.: 183-230. 2nd Ed. Exegetics. Edington. UK.
20. **GIRGEBV. 1994,** LABORATORIO DE GENETICA-UNIDAD DE CULTIVO DE TEJIDOS. "Resumen del primer curso nacional de Propagación In Vitro de especies ornamentales". Perú.
21. **GRIBAUDO, I., NOVELLO, V. and RESTAGNO, M. 2001.** Improved control of water loss from micropropagated grapevines (*Vitis vinifera* cv. Nebbiolo). *Vitis* 40 (3): Pág 137-140.
22. **GONZALES, A. 2006.** Auxinas (en línea). US. Consultado set 2011.
Disponible en:
<http://www.efn.uncor.edu/dep/biologia/intrbiol/auxinas.htm>.

23. **HENRY G, WESTBY A, COLLISON C 1998.** Global Cassava end uses and markets: Current situation and recommendations for further study. www.globalcassavastrategy.Net.htm (Cons. 09/2002)
24. **HINE, D. 1991.** Efecto de tres niveles de fertilización nitrogenada y dos sustratos de crecimiento sobre la nutrición y producción de Maranta Roja (*Maranta leuconeura*). Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. UCR. 38 p.
25. **HURTADO y MERINO, M. 1988.** Cultivos de tejidos vegetales. Editorial Trillas. México. 67p.
26. **HOLDRIDGE, H. (1970),** Clave Ecológica del Perú. Zonas de Vida. Centro Tropical de investigación y enseñanza. Lima – Perú. 367 – 368 pp.
27. **HOPKINS, W. 1999.** Introduction to Plant Physiology. 2nd Ed. John Wiley & Sons. New York.
28. **INFANTE, R., MAGNANINI, E. and RIGHETTI, B. 1989.** The role o light and CO₂ in optimising the conditions for shoot. proliferation of *Actinidia deliciosa in vitro*. *Physiol. Plantarum*. 77: 191-195.

29. **KONAN NK; SANGWAN RS; SANGWAN-NORREEL BS.**1994. Efficient *in vitro* shoot- regeneration systems in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Plant Breeding 113:227-236.
30. **KOZAI,T** 1991 Micropropagation under photo autotrophic aconditions p 467-469 In Micropropagation .Technology and application, DEBERG, P, C; ZIN MERMAN, R H (eds) KLUWER.
31. **KRIKORIAN, AD** 1991. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. En: Cultivos de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones (WM Roca & LA Mroginski, eds.), pp.: 41-70. CIAT. Cali. Colombia.
32. **MARÍN, JA.**1993. Micropropagación de especies frutales.HortoFrutic. 1: 56-62.
33. **MURPHY, K., SANTAMARÍA, J., DAVIES, W. and LUMSDEN, P.** 1998. Ventilation of cultured vessels: I. Increased growth In Vitro and survival ex vitro Delphinium. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73 (6): Pág 725- 729.
34. **MURASHIGE, T.** 1974. Plant propagation throgh tissue culture. Ann. Rev. Plant. Physiol. 25: 135-166.

35. **MURASHIGE, T. 1977.** Manipulation of organ initiation in plant tissue cultures. Botanical Bulletin of the Academia Sinica. 18:1-24.
36. **PIERIK. R.L.M 1990.** Cultivo In Vitro de las Plantas Superiores. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid - España. Pág 295- 326.
37. **RITCHIE, G., SHORT, K. and DAVEY, M. 1991.** In Vitro acclimatization of chrysanthemum and sugar beet plantlets by treatment with paclobutrazol and exposure to reduced humidity. Journal of experimental botany 42 (245): Pág 1557-1563.
38. **RAISMAN, J.S. 2005.** Tipos de reguladores de vegetales (en línea). Revista de Biología. Consultado set 2011. Disponible en: http://www.biologia.edu.ar/plantas/reguladoresvegetales2005/tipos_de_reguladoresvegetales.htm
39. **ROCA WM. 1984.** Cassva. En Sharp WR; Evans DA; Ammirato PV; Yamada Y. HandBook of Plant cell cultura. 2: Crop species. MacMillan Pub., New York. P. 269 – 301.
40. **ROCA W. M. y MROGINSKI, L.A. 1991.** Establecimiento de un Laboratorio para el Cultivo de tejidos vegetales. En: cultivo de tejidos en la agricultura: (Ed. Por W.M. Roca y L. A. Mroginski). CIAT. Cali. 211 – 238..

41. **ROJAS, G.** 1993. Fisiología vegetal aplicada. 4 ed. México, Interamericana Mc.graw-Hill. 275 p.
42. **SANTAMARÍA, J., MURPHY, K., LEIFERT, C. and LUMSDEN, P.** 2000. Ventilation of cultured vessels: I. Increased water movement rather than reduced concentrations of ethylene and CO₂ is responsible for improved growth and development of Delphinium In Vitro. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 75 (3): Pág 320-327.
43. **SLAVTCHEVA, T. and DIMITROVA, V.** 2000. Gas exchange with In Vitro cultivated grapevine plants during acclimatization period. Acta Horticulturae 526: Pág 357- 363.
44. **SÉTYER, A.J.** 1988. "Meristem and shoot tip culture for propagation pathogen elimination and Germoplasma preservation Horticultural Reviews" 5: 227-227p.
45. **SUTTER, E. and LANGHANS, R.** 1979. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip
46. **SZABADOS L; HOYOS R; ROCA W.** 1987. In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava. Plant Cell Reports 6:248-251.

47. **TINEO, A. 1993.** Física de suelos. Algunos elementos teórico prácticos. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. UNSCH. 53 p.
48. **THOMAS, P. 1998.** Humid incubation period and plantlet age influence acclimatization and establishment of micropropagated grapes. In Vitro cell. 34: Pág 52-56.
49. **VIDALIE. H. 1986.** Cultivo in vitro. Editorial Científica, S.A. de C.V. México.
50. **VAN HUYLENBROECK, J.M. and DEBERGH, P.C. 1996.** Impact of sugar concentration In Vitro on photosynthesis and carbon metabolism during ex vitro acclimatization of *Spaththphyllum* plantlets. Physiol. Plant. 96: Pág 298-304.
51. **ZOBAYED, S., ARMSTRONG, J. and ARMSTRONG, W. 2001.** Leaf anatomy of *in vitro* tobacco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. Plant Science 161 (3): 537-548.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación titulado aclimatación de plántulas *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* C.) En Invernadero En La Estación Experimental El Porvenir - Juan Guerra. Cuyo objetivos de estudio fueron: Determinar un protocolo de aclimatación de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.), micropropagadas clonalmente en condiciones de Laboratorio, el efecto del inductor de crecimiento ácido indol butírico (AIB) en el desarrollo óptimo de aclimatación en vivero de plántulas de yuca (*Manihot esculenta* C.) propagadas *in vitro*.y los niveles óptimos de conductividad eléctrica de una solución de fertilizante foliar balanceada (20-20-20), el cual se realizo en el invernadero de Biotecnología Vegetal de la Estación Experimental Agraria "El Porvenir", Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA, bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 4 x 3, que dio como resultado 12 tratamientos y 54 plántulas por tratamiento, se concluyo lo siguiente: Se logró obtener un protocolo para la aclimatación de plántulas de *Manihot esculenta* C en vivero listas para su trasplante a campo definitivo. El Acido Indol butírico a dosis de aplicación de 2000 ppm y 3000 ppm respondieron satisfactoriamente en los parámetros estudiados especialmente en los tratamientos Y23, Y33 y Y32 quienes destacaron más según los análisis Duncan al 0.05. Se determino que los diferentes niveles de Conductividad Eléctrica en la fertilización balanceada (20-20-20), influyen en el mejor desempeño de Acido Indol Butírico sobre las plántulas de *Manihot esculenta* C en los diferentes parámetros estudiados. Los niveles óptimos de conductividad eléctrica utilizados en el experimento, como 2.2 y 2.8, influyen en una mejor asimilación de AIB a concentraciones de 2000 y 3000 ppm, cuyos efectos son variados en función al parámetro evaluado, siendo esto un comportamiento fisiológico de la misma planta.

Palabras claves: Yuca (*Manihot esculenta* C.), Aclimatación, Ácido indolbutírico, conductividad eléctrica.

SUMARY

Presently work of investigation titled plántulas acclimatization in yucca vitro (*Manihot esculenta* C.) In Hothouse In The Experimental Station The Future - Juan Guerra. Whose study objectives were: To determine a protocol of acclimatization of yucca plántulas (*Manihot esculenta* C.), micropropagadas clonalmente under conditions of Laboratory, the effect of the inductor of growth sour indol butírico (AIB) in the good development of acclimatization in nursery of yucca plántulas (*Manihot esculenta* C.) spread in vitro.y the good levels of electric conductivity of a fertilizer solution to foliate balanced (20-20-20), which one carries out in the hothouse of Vegetable Biotechnology of the Agrarian Experimental Station "The Future", National Institute of Agrarian Innovation - INIA, under a Design Totally at random (DCA) with factorial arrangement of 4 x 3 that he/she gave 12 treatments and 54 plántulas as a result for treatment, you concludes the following thing: It was possible to obtain a protocol for the acclimatization of plántulas of *Manihot esculenta* C in nursery lists for their transplant to definitive field. The Sour Indol butírico to dose of application of 2000 ppm and 3000 ppm responded satisfactorily in the parameters studied especially in the treatments Y23, Y33 and Y32 who highlighted more according to the analyses Duncan at the 0.05. You determines that the different levels of Electric Conductivity in the balanced fertilization (20-20-20), they influence in the best acting in Sour Indol Butírico on the plántulas of *Manihot esculenta* C in the different studied parameters. The good levels of electric conductivity used in the experiment, as 2.2 and 2.8, influence in a better assimilation from AIB to concentrations of 2000 and 3000 ppm whose effects are varied in function to the evaluated parameter, being this a physiologic behavior of the same plant.

Key words: Yucca (*Manihot esculenta* C.), Acclimatization, Sour indolbutírico, electric conductivity.

ANEXO

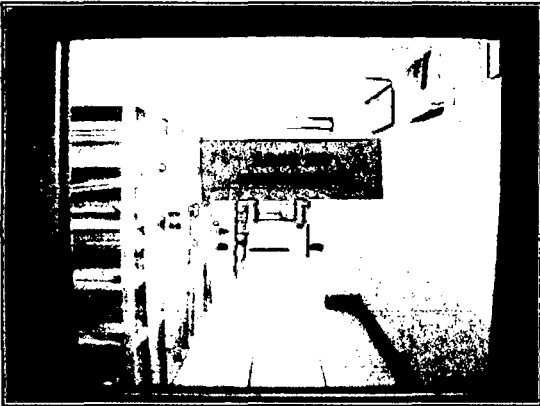
FASES DE MULTIPLICACIÓN



Multiplicación de las Vitroplantas



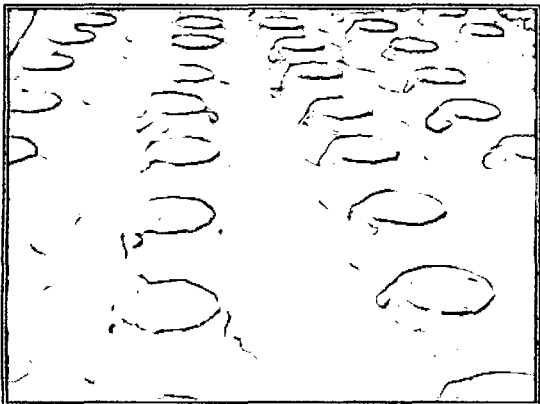
Microestacas



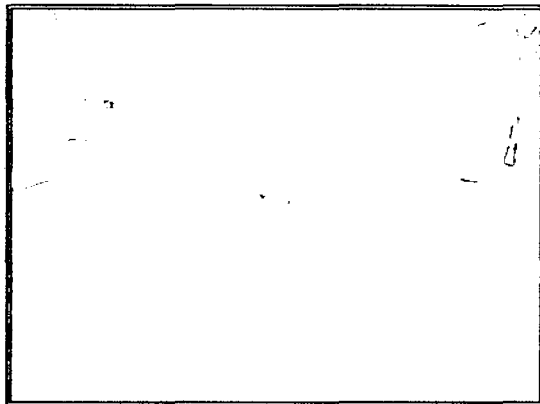
Área de Incubación Automatizada



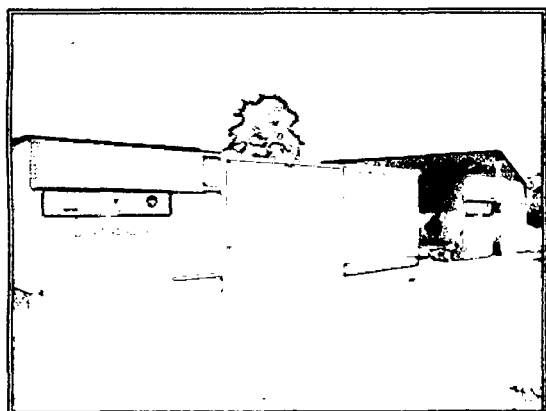
FASE DE PRE-ACLIAMACIÓN



Pre - Aclimatación de las Vitroplantas



ACLIMATACIÓN



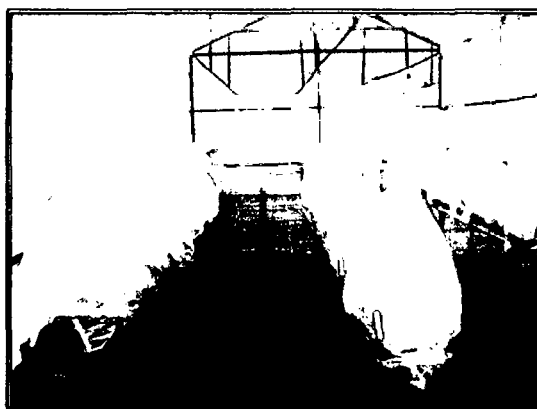
Invernadero



Esterilización del Sustrato



Llenado de las Bandejas



Cámara Húmeda



Plantas Aclimatadas